

BIOCHEMICAL CALCULATIONS

How to Solve Mathematical Problems in General Biochemistry

Second Edition

IRWIN H. SEGEL

Department of Biochemistry and Biophysics
University of California
Davis, California

BEST AVAILABLE COPY

JOHN WILEY & SONS, INC. New York • London • Sydney • Toronto

Authorized translation from English language edition
published by John Wiley & Sons, Inc., New York

© 1979 日本精細出版株式会社 成川書店

無断転載を禁ず。

English translation of BIOCHEMICAL CALCULATIONS (IRWIN H. SEGEL), page 251, line 1 from the bottom to page 252, line 4 from the bottom

Problem 4-4

The following measurement results were obtained as regards the substrate \rightarrow product ($S \rightarrow P$) reaction catalyzed by an enzyme. (a) Calculate V_{max} and K_m . (b) What is v when $[S]$ is $2.5 \times 10^{-3} M$ and $5 \times 10^{-3} M$? (c) Calculate v at $5.0 \times 10^{-3} M$ when enzyme concentration doubled. (d) In this Table, v was determined by measuring the concentration of product accumulated in 10 min. Confirm that v means a true initial (or "sokuten") rate.

$[S]$ (M)	v ($\mu\text{mol/l} \cdot \text{min}$)
6.25×10^{-4}	15.0
7.50×10^{-3}	56.25
1.00×10^{-2}	60
1.00×10^{-3}	74.9
1.00×10^{-2}	75

Answer

(a) The best method to obtain V_{max} and K_m is to plot this data using any of the below-mentioned methods. However, in this Problem, it is understood that when $[S]$ becomes not less than 10^{-2} , v is not dependent on the change of $[S]$. In other words, in the range of from $[S] = 10^{-3}$ to $10^{-2} M$, v must be a value very close to V_{max} .

$$V_{max} = 75 \mu\text{mol/liter} \cdot \text{min}^{-1}$$

To solve K_m , v (any) and the corresponding $[S]$ need only be taken.

$$\frac{v}{V_{max}} = \frac{[S]}{K_m + [S]} \quad \frac{60}{75 \times 10^{-4} - 60K_m + 60 \times 10^{-4}} = \frac{10^{-2}}{75K_m + 10^{-4}}$$

$$K_m = \frac{15 \times 10^{-4}}{60} = 0.25 \times 10^{-4}$$

$$K_m = 2.5 \times 10^{-5} M$$

As long as this enzyme follows the formula of Henri-Michaelis-Menten, the same answer will be obtained from any combination of different data.

*This book is dedicated with much love
to my sons Jonathan and Daniel*

Copyright © 1968, 1976, by John Wiley & Sons, Inc.

All rights reserved. Published simultaneously in Canada.

No part of this book may be reproduced by any means, nor transmitted, nor translated into a machine language without the written permission of the publisher.

Library of Congress Cataloging in Publication Data

Segel, Irwin H. 1935-

Biochemical calculations.

Includes index.

1. Biological chemistry--Problems, exercises,

etc. I. Title.

QD415.354 1975

674.19770151

75-23140

ISBN 0-471-77481-9

Printed in the United States of America

10 9 8 7 6 5 4 3 2

シーゲル 生化学計算法

東京医科歯科大学助教授

自治医科大学教授

東京医科歯科大学教授

林 利彦

石倉 久之

永井 裕

共訳

第2版



東京 廣川書店 発行

250 4. 解

$$v_{\text{正}} = \frac{k_1[E] \frac{[S]}{K_s} - k_{-1} \frac{[P]}{K_p}}{1 + \frac{[S]}{K_s} + \frac{[P]}{K_p}}$$

$$v_{\text{正}} = \frac{V_{\text{最大}} \frac{[S]}{K_s} - V_{\text{最大}} \frac{[P]}{K_p}}{1 + \frac{[S]}{K_s} + \frac{[P]}{K_p}} \quad (5)$$

あるいは

$$v_{\text{正}} = \frac{V_{\text{最大}} \left(\frac{[S]}{K_s} - \frac{[P]}{K_p} \right)}{K_s \left(1 + \frac{[P]}{K_p} \right) + [S]} \quad (6)$$

ここで

$$K_{\text{中間}} = \frac{V_{\text{最大}} K_s}{V_{\text{最大}} K_p}$$

定常状態の取扱いでは、 K_s および K_p の代りに $K_{\text{中間}}$ および K_m を用い、れば、同じような最終的な式が得られる。通常の式の分子中の $[S]$ の代りに、上式では $[S]$ と $[S]$ の平衡における値との差を用いる。分母中の K_s の項は基質に対する結合阻害剤として生成物が働いているように修正する。いいかえると、正味の初速度は系の平衡からのずれ（すなわち、熱力学的駆動力）と生成物に結合している酵素量に依存する。結合阻害については後節でさらに詳しく説明する。

速度対基質濃度曲線

Henri-Michaelis-Menten の式から初速度を基質濃度に対してプロットしたときの曲線が描かれる。図 4-7 に示した曲線は直交双曲線で、漸近線は $V_{\text{最大}}$ と $-K_m$ である。この曲線の形は K_m および $V_{\text{最大}}$ の値に関係なく一定である。したがって、 $V_{\text{最大}}$ を 1 にしたとき、縦軸のどの 2 点をとっても、その 2 点での基質濃度の比は Henri-Michaelis-Menten の速度論に従うすべての酵素で等しくなる。例えば $V_{\text{最大}}$ の 90% になるに必要な基質と $V_{\text{最大}}$ の 10% になるに必要な基質の比は以下に示すように常に 81 である。

$$v = 0.9 V_{\text{最大}} \text{ のとき } 0.9 = \frac{[S]}{K_m + [S]} \quad [S]_{0.9} = 9 K_m$$

$$v = 0.1 V_{\text{最大}} \text{ のとき } 0.1 = \frac{[S]}{K_m + [S]} \quad [S]_{0.1} = \frac{K_m}{9}$$

B. 酵素速度論 251

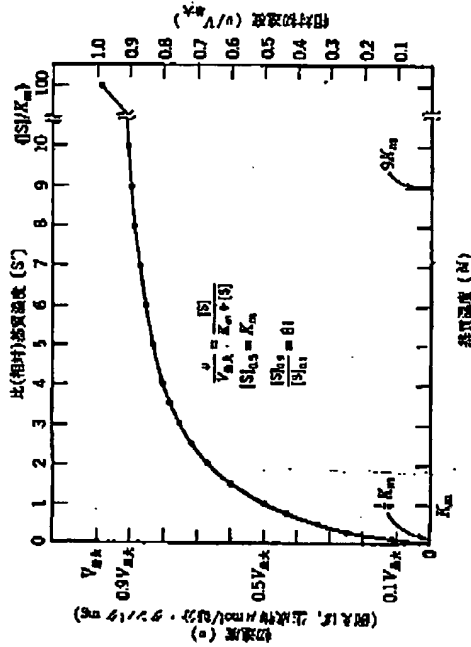


図 4-7 v 対 $[S]$ プロットの曲線の形は一定である。 $[S]_{0.9}/[S]_{0.1}$ は K_m および $V_{\text{最大}}$ の絶対値とは無関係で常に 81 に等しい。

$$\therefore \frac{[S]_{0.9}}{[S]_{0.1}} = 81$$

図 4-3

(a) $[S] = 4 K_m$, $[S] = 5 K_m$, $[S] = 6 K_m$, $[S] = 9 K_m$ および $[S] = 10 K_m$ のとき、 $V_{\text{最大}}$ を 1 とすると v はいくらになるか。 (b) $[S]_{0.9}/[S]_{0.1}$ および $[S]_{0.9}/[S]_{0.1}$ の比を計算せよ。

解答

(a) 代入しなくともすぐに答がでるはずである。

$$[S] = 4 K_m \text{ では } v = \frac{4}{5} V_{\text{最大}}, [S] = 5 K_m \text{ では } v = \frac{5}{6} V_{\text{最大}}, [S] = 6 K_m \text{ では } v = \frac{6}{7} V_{\text{最大}}, [S] = 9 K_m \text{ では } v = \frac{9}{10} V_{\text{最大}}, [S] = 10 K_m \text{ では } v = \frac{10}{11} V_{\text{最大}}$$

(b) 上に示したように $[S]_{0.9} = 9 K_m$ であり $[S]_{0.1} = K_m$ である。したがって $[S]_{0.9}/[S]_{0.1}$ は 9 であり、 $V_{\text{最大}}$ および K_m の絶対値は無関係である。 $[S] = 9 K_m$ では $0.9 V_{\text{最大}}$ になる。したがって $[S]_{0.9}/[S]_{0.1}$ は 9 である。

図 4-4

252 4. 解 案

酵素によって触媒される基質 $S \rightarrow P$ の反応について下記の測定結果を得た。(a) V_{max} と K_m を求めよ。(b) $[S]$ が $2.5 \times 10^{-3} M$ および $5 \times 10^{-3} M$ のときの v はいくらか。(c) 酵素濃度が2倍になったとき、 $5.0 \times 10^{-3} M$ での v を求めよ。(d) ここにおけた表中の v は10分間に蓄積した生成物の濃度を測定して決めた。 v が其の初(あるいは"印点")速度を表わしていることを確かめよ。

$[S]$	v
(M)	(nmol/l·min)
6.25×10^{-3}	15.0
7.50×10^{-3}	56.25
1.00×10^{-2}	60
1.00×10^{-2}	74.9
1.00×10^{-2}	75

解答

(a) V_{max} と K_m を得る最良の方法は後に述べる方法のいずれかを用いてこのデータをプロットすることである。しかしこの問題の場合、 $[S]$ が $10^{-3} M$ 以上になると v は $[S]$ の変化に関係しないことがわかる。すなわち、 $[S] = 10^{-2}$ から $10^{-3} M$ の領域で、 v は V_{max} に非常に近い値であるにちがいない。

$$V_{\text{max}} = 75 \text{ nmol} \times \text{リットル}^{-1} \times \text{分}^{-1}$$

K_m について解くには、 v (いずれでも) とそれに対応する $[S]$ をとればよい。

$$\frac{v}{V_{\text{max}}} = \frac{[S]}{K_m + [S]} \quad \frac{60}{75} = \frac{10^{-3}}{K_m + 10^{-3}}$$

$$75 \times 10^{-3} = 60 K_m + 60 \times 10^{-3}$$

$$K_m = \frac{15 \times 10^{-3}}{60} = 0.25 \times 10^{-3}$$

$$K_m = 2.5 \times 10^{-4} M$$

この酵素が Henri-Michaelis-Menten の式に従い、他のどのデータの組み合わせをとっても同じ値になるはずである。

(b) $[S] = 2.5 \times 10^{-3} M = K_m$ では $v = 0.5 V_{\text{max}}$

すなわち

$$v = 37.5 \text{ nmol} \times \text{リットル}^{-1} \times \text{分}^{-1}$$

B. 酵素速度論 253

$[S] = 5.0 \times 10^{-3} M$ では

$$\frac{v}{75} = \frac{5 \times 10^{-3}}{(2.5 \times 10^{-3}) + (5 \times 10^{-3})} = \frac{5}{7.5}$$

$$v = \frac{(5)(75)}{7.5} \quad \text{すなわち} \quad v = 50 \text{ nmol} \times \text{リットル}^{-1} \times \text{分}^{-1}$$

$[S] = K_m$ のとき、 v は $0.5 V_{\text{max}}$ であるけれども、 $[S] = 2 K_m$ のとき v が V_{max} になるわけではないことに注意せよ。ここで取っているのは直線関係ではなくて、双曲線関係である。

(c) Henri-Michaelis-Menten の式は次のように書くことができる。

$$v = \frac{[S]}{K_m + [S]} \cdot k_p [E]_t$$

したがって、 v はどの基質濃度でも酵素濃度に正比例する。 $[S] = 5 \times 10^{-3} M$ で $[E]_t$ を2倍にすると V_{max} も2倍になるので、 v も2倍になる。

$$\therefore v = 100 \text{ nmol} \times \text{リットル}^{-1} \times \text{分}^{-1}$$

(d) 基質濃度が活性測定中実質的に一定のままであるときのみ、すなわち、 $[S]$ のうちのほんの少量だけが消費されるときのみ、速度は真の初(あるいは印点)速度となると考えられる。 K_m に比べて基質濃度が相対的に高いときは問題はない。 $[S]$ がもっとも小さいときの基質の消失について検討しておこう。 $6.25 \times 10^{-4} M$ $[S]$ のときのみかけの v は $15 \text{ nmol} \times \text{リットル}^{-1} \times \text{分}^{-1}$ あるいは言いかえると、10分間に 150 nmol リットルの P が生まる(そして 150 nmol の S が消失する)。

$$\frac{S \text{ の消費量 } 150 \times 10^{-3} \text{ mol} / \text{リットル}}{S \text{ の初めの存在量 } 6.25 \times 10^{-4} \text{ mol} / \text{リットル}} = \frac{0.150 \times 10^{-3}}{6.25 \times 10^{-4}}$$

$$= 0.024 \quad \text{あるいは} \quad 2.4\%$$

S のうちの2.4%が消費されただけである。5%以下ならよい。

問題 4-5

反応 $S \rightleftharpoons P$ の平衡定数は5である。ここに $[S] = 2 \times 10^{-4} M$ および $[P] = 9 \times 10^{-4} M$ の混合物があるとしよう。 $K_{\text{eq}} = 3 \times 10^{-1}$ 秒、 $V_{\text{max}} = 2 \mu\text{mol} \times \text{リットル}^{-1} \times \text{分}^{-1}$ 、 $V_{\text{max}} = 4 \mu\text{mol} \times \text{リットル}^{-1} \times \text{分}^{-1}$ 。(a) 適当な酵素を添加したとき、この反応はどちらの方向へ進むであろうか。(b) 反応が平衡に向って進みはじめるときの初速度はいくらか。

シークル・生化学計算法

—第2版—

定價 5,800.—

既省承認 横印省略

永石林	井倉久利	裕之彦	昭和46年8月31日 初版発行 ①
廣川節男	廣川節男	廣川節男	昭和54年6月25日 第2版 1刷発行
			昭和55年6月25日 第2版 2刷発行

印刷所 日本印刷株式会社

製本所 神田・短林製本所

發行所 株式会社 廣川書店

〒113-91 東京都文京区本郷3丁目27番14号
 振替 東京 82694 番
 電話 東京 (03) (815) 3851 代表

自然科学書協会員・高等教科書協会員

Hirokawa Publishing Co.

27-14, Hongō-3, Bunkyo-ku, Tokyo

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☒ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.